

식물성장촉진근권미생물 *Arthrobacter scleromae* SYE-3의 분리 및 Yam (*Dioscorea japonica* Thunb.) 성장에 미치는 영향 연구

홍선화, 김지슬, 심준규, 이은영*

Isolation and Characterization of the Plant Growth Promoting Rhizobacterium, *Arthrobacter scleromae* SYE-3 on the Yam Growth

Sun Hwa Hong, Ji Seul Kim, Jun Gyu Sim, and Eun Young Lee*

Received: 14 December 2015 / Revised: 29 February 2016 / Accepted: 3 March 2016

© 2016 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: In this study, *Arthrobacter scleromae* SYE-3, which was isolated from indigenous plant in a subtropical region, Neigeria, with plant growth promoting activity was evaluated to determine the optimal culture condition. A bacterial strain SYE-3 had the IAA productivity (89.15 ± 0.36 mg/L) and ACC deaminase activity (0.20 ± 0.06 at 72 hours). Also, optimal culture conditions such as temperature and pH of strain SYE-3 were 20°C and 10 in LB medium, respectively. Strain SYE-3 had up to 3% salt tolerance in the LB medium. Plant growth promoting ability of strain SYE-3 using yam (*Dioscorea japonica* Thunb.) was evaluated. As a result, strain SYE-3 had showed very powerful effect on the increase of the shoot length and root biomass of yam (190.0% and 282.41% increase for 112 days, respectively). These results indicated that *Arthrobacter scleromae* SYE-3 can serve as a promising microbial resource for the biofertilizers of subtropical crops.

Keywords: ACC, IAA, Plant growth promoting rhizobacteria, Subtropical crops, Yam

1. INTRODUCTION

식물의 뿌리를 둘러싸고 있으며, 뿌리를 흔들었을 때 떨어지지 않고 강하게 붙어있어 뿌리의 영향을 받는 토양권을 ‘근권토양 (rhizosphere soil)’이라 하며 이 용어는 1904년 Hiltner에 의해 처음 정의되었다 [1]. 근권은 식물의 뿌리가 성장하는 동안 다양한 물질 (뿌리삼출물)을 흡수하고 배출하여 토양 내에 독특한 환경을 형성하고 토양 미생물의 활성과 번식에 매우 유리한 환경을 제공한다 [2]. 이러한 근권에서 서식하는 미생물을 근권미생물 (rhizosphere microorganism)이라 하며 이들 미생물들 중 식물에게 이로운 작용을 하는 미생물을 식물성장 촉진 근권미생물 (plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)이라 한다 [3].

PGPR은 식물의 뿌리에 흡착하거나, 군락을 형성하여 식물의 뿌리 삼출물을 이용하며 성장한다. PGPR은 항생물질을 생산하여 식물 병원균으로부터 식물을 보호하거나, 대기 중의 질소를 고정하여 식물에게 질소원을 공급하고, 식물의 성장을 조절하는 다양한 효소를 생산하여, 여러 가지 대사를 통해 토양내의 인과 철과 같은 미네랄을 가용화 시켜 식물이 흡수하기 쉽게 도와주는 등의 역할을 한다 [4-6].

식물들은 체내에서 생육에 필요한 여러 가지 호르몬을 합성하지만 외부에서 공급되는 여러 호르몬에 대해서도 생리적인 영향을 받는다 [7]. 그렇기 때문에 다양한 환경에서 서식하는 식물들은 식물호르몬을 생산하는 미생물의 영향을 많이 받는다. 식물의 성장을 향상시킬 수 있는 능력을 가진 다양한 PGPR들은 식물에 이익을 주며 식물이 배출하는 영양물질을 받아 식물의 신진대사에 활용하기에 둘은 상호 공

수원대학교 환경에너지공학과
Department of Environmental and Energy Engineering, The University of Suwon, Suwon 445-743, Korea
Tel: +82-31-220-2614, Fax: +82-31-220-2533
e-mail: ley@suwon.ac.kr

생 관계이다 [8].

본 연구에서는 열대 및 아열대성 작물인 yam을 대상으로 성장을 향상시키는 근권미생물을 분리하고자 하였다. Yam은 백합목 마과식물 (*Dioscoreaceae*)로 현재까지 10속 650여 종이 알려져 있으며, 한국, 일본, 중국 지역과 열대, 아열대 지역에 널리 분포하고 있는 다년생 덩굴식물이다 [9]. 예로부터 한방에서는 자양, 강장, 폐결핵 등에 유효하고 소염, 해독, 진해, 거담, 이뇨, 신경통, 류마티즘에 효과가 있는 것으로 알려져 있으며 [10], 재배되는 마의 지하괴근은 식용 및 약용으로 이용되고 있다 [11]. 국내에서의 생마 지하괴근 생산량은 연간 4,311톤을 상회하나, 수확 후의 장기 저장 및 유통의 문제점으로 인해 주로 11월에서 3월 사이에 한정적으로 유통되고 있다. 한편 마의 지하괴근은 15~20%의 전분질, 1~1.5%의 단백질, 1%의 지질, 미량의 미네랄 및 비타민을 포함하고 있으며, saponin, tannin, polyphenol, allantoin, uronic acid, chellidonic acid, sitosterol, mucin, araginine, yonogenin, kryptogenin, diosgenin 등 다양한 생리활성물질들을 포함하는 것으로 보고되어 있다 [12]. 최근에는 마의 유용 생리활성물질에 의한 콜레스테롤 저하효과, 항산화작용, 항당뇨, 항대장암 효과 및 항돌연변이 활성 [9,12] 등의 효능이 밝혀지면서 소비가 급격히 증가되고 있는 실정이다. 지금까지 보고된 yam의 관한 연구들은 생마의 보관법 [11], yam의 생리활성에 의한 유용성 [13,14] 등 식품으로써의 yam의 가치증대에 관한 연구가 대부분이고 yam의 성장 자체를 향상시킬 수 있는 방법에 대한 연구는 미비한 실정이었다. 이에 yam 지하괴근의 성장을 크게 향상시킬 수 있는 식물성장 촉진 근권미생물을 분리하여 식물성장의 향상을 도모하고자 하였다.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. 식물성장촉진 근권미생물의 분리 및 동정

연구에 사용한 토양은 Africa Nigeria의 Abia state, Uturu 지역 (5°49'41.4"N 7°23'31.6"E), Lagos 지역 (6° 26' 30.0"N 3° 15' 0.0"E), 그리고 Enugu지역 (6° 22' 37.9566"N 7° 28' 59.252"E)에서 채취하였다. 토양시료는 Nigeria Lagos 지역 작물 재배지에서 채취한 토양, Enugu지역 작물 재배지 토양, 및 Abia공대 내 작물 재배지 토양으로 이곳은 특히 주변 잡초를 태워 만든 잿물을 비료로 사용하고 있는 지역으로부터 채취하였다.

채취한 토양으로부터 구축한 colony library를 구축하고 이들을 대상으로 IAA (indole-3-acetic acid) 생산능과 ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) deaminase 활성을 평가하였다. 식물성 호르몬인 IAA 생산능을 다음과 같은 방법으로 평가하였고, 모든 실험은 3반복하였다. 각각의 colony를 전배양한 배양액을 0.5 mg/mL의 tryptophane을 첨가한 DF 배지 [15]에 접종하여 30°C에서 180 rpm으로 5일간 배양하였다. DF 배지의 조성은 Hong과 Lee(2014)의 연구를 참고하여 만들었다. DF 배지에서 균주 배양이 끝나면 (5일 후) 배양액

과 Salkowski's reagent [15]를 1:2 (v/v)의 비율로 섞은 후, 상온에서 20분간 정치한 후 발색되는 정도 (분홍색으로)를 흡광도계 (HACH, USA)를 이용하여 530 nm에서의 흡광도를 측정하였다. 표준물질로 3-Indoleacetic acid (C₈H₆N-CH₂COOH, SHOWA chemical co., Japan)를 이용하여 위와 동일한 방법으로 실험한 후 검량선을 작성하고 실험에 이용한 시료의 농도로 환산하였다 [15].

ACC deaminase 활성은 Dell'Ammico 등 (2005) [16]과 같은 방법으로 평가하였다 (사용된 배지는 DF 배지에 포함되어 있는 (NH₄)₂SO₄ 대신 3 mM의 ACC를 넣어 제작하였다). 각각의 colony를 전 배양하여 DF배지에 최종적으로 접종량이 5%가 되도록 접종 (v/v)하여 30°C에서 180 rpm으로 48시간 동안 배양하였다. 배양기간 동안 흡광도계를 이용하여 4시간마다 600 nm에서 흡광도를 측정하였다. 유일 질소원인 ACC를 이용하여 성장한 미생물의 성장 정도를 측정할 때 흡광도 값의 차이를 ACC deaminase의 효소활성 결과로 해석할 수 있다.

분리 균주는 16s rDNA분석법을 이용하여 동정하였다. LB 배지에 출현한 순수 분리된 colony를 DNA추출 kit (MoBio, USA)을 이용해 genomic DNA를 추출하였고, 추출된 DNA를 template로 하여 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. DNA template 1 µL와 primer 를 각각 20 pmol씩 넣고 0.5 mg/mL BSA, 0.2 mM dNTP, 2.5 µL의 10xbuffer를 넣어 dH₂O로 총 부피를 25 µL가 되도록 하였다. 이때 사용한 primer는 universal primer로 27f(5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AC-3')와 1492r(5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT-3')이다. PCR 조건은 93°C에서 2분 동안 pre-denaturation한 후, 92°C에서 denaturation 1분, 55°C에서 annealing 1분, 68°C에서 extension 45초 과정을 35 cycle 반복한 후, 72°C에서 2분 동안 최종 extension한 후 4°C에서 holding 하였다. PCR로 증폭된 DNA의 염기서열을 분석하였다 [15]. 분석된 균주는 the National Center for Biotechnology Information (NCBI) website의 basic Local Alignment Search Tool (BLAST) algorithm을 통해 GenBank database와 비교하여 동정하였다.

2.2. 분리 균주의 성장 특성

식물성장 촉진능력에 기반하여 분리 선별되고 동정된 *Arthrobacter scleromae* SYE-3 균주의 생리적 특성을 다음과 같은 방법으로 조사하였다. 15 mL test tube에 5 mL LB broth를 넣고 SYE-3 균주를 100 µL (2%, v/v)씩 접종하여 진탕 배양하였다. 이때 각각의 배지에 NaCl을 1, 2 그리고 3% (v/w)가 되도록 첨가하였으며 접종된 tube를 30°C incubator에서 배양하였다. 다음으로는 배지의 pH 조건을 달리 설정하기 위하여 phosphate buffer를 이용하여 pH를 4, 5, 6, 7, 8, 9 그리고 10으로 한 후 균주를 접종하여 30°C incubator에서 배양하며 균주의 성장능을 측정하였다 [17]. 또한, 동일한 배지에 배양 온도만 20, 30 그리고 50°C로 달리 설정하여 균주의 성장능을 평가하였다. 모든 실험조건에서 접종량을 동일하게 설정하였으며, 배양된 균주의 성장은 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.

2.3. 식물성장촉진 근권미생물이 yam 성장에 미치는 영향

분리된 *Arthrobacter scleromae* SYE-3이 아열대 마과식물 yam (*Dioscorea japonica* Thunb.)의 성장을 촉진하는지 알아보았다. 실험에 이용된 화분은 직경 36 cm, 높이 33 cm의 원형이었다. 일반토양에서 발아되어 재배된 yam을 구매하여 평균 길이가 약 5 cm인 식물을 화분에 2개씩 2반복으로 정식하였다. 분리된 근권세균은 1.5 L의 LB배지에 3일간 배양(20°C)한 후 배양액을 10000 rpm으로 10분간 원심분리하였다. 회수된 균주에 멸균수를 첨가하여 현탁한 후 다시 동일 조건으로 원심분리 하는 과정을 2차례 반복하여 균주를 세척해 주었다. 세척된 균주는 약 1.8×10^8 cfu/g의 생균수가 되도록 멸균수 150 mL에 현탁한 후 토양에 주입하고 충분히 혼합하였다. 실험군과 근권세균을 접종하지 않는 조건을 대조군으로 하여 112일간 실험을 수행하였다. 실험은 기온이 약 26~28°C인 온실에서 수행하였다. 재배 112일 후에는 yam 줄기를 정식하기 전의 각각의 초기값 (4.1~5.3cm)을 실험종료후의 줄기 길이 값에서 뺀 후 이를 성장 길이로 간주하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. 식물성장촉진 근권미생물의 분리 및 동정

열대, 아열대 지역에서 주로 서식하는 yam의 성장을 향상시킬 수 있는 근권미생물을 분리하기 위하여 대표적인 열대성 기후를 가지는 Nigeria (www.naver.com)에 서식하고 있는 토착 식물로부터 근권토양을 얻었다. 근권토양으로부터 분리된 모양과 색이 차이는 colony를 대상으로 식물성장능력을 평가하였다. 그 중 식물성 호르몬인 IAA 생산능과 ACC deaminase 활성이 우수한 SYE-3을 분리하였다. SYE-3의 IAA 생산능은 89.15 ± 0.36 mg/L였고 (Fig. 1(a)), ACC deaminase 활성은 확인하였다. 배양 72시간째에 대조군은 OD가 0인 반면, SYE-3이 첨가된 실험군은 ACC를 질소원으로 이용하여 성장한 결과 OD값이 0.20 ± 0.06 로 나타났다 (Fig. 1(b)). 미생물의 생장이 있는 실험군은 양성이며, ACC 이용이 가능한 미생물은 질소원이 없는 DF배지에서 ACC를 이용해 성장할 수 있다. 따라서 미생물의 성장여부에 따라서 ACC의 이용여부를 결정할 수 있다[16]. 식물성장촉진능력이 우수한 SYE-3의 16S-rDNA부분 염기 서열을 분석하여 동정한 결과 SYE-3는 *Arthrobacter scleromae*였다.

일반적으로 알려져 있는 식물성 호르몬은 옥신 (auxin), 지베렐린 (gibberellin), 시토키닌 (cytokinin) 그리고 기타 호르몬으로 분류가 된다. 이들의 기능은 서로 비슷하게 작용하며, 특히, 식물성장 호르몬인 옥신의 한 종류인 IAA는 식물의 성장을 촉진한다 [18]. 일반적으로 PGPR은 host식물에 있는 IAA와 같은 식물호르몬을 식물 내부에 있는 pool에 제공해 식물 성장에 영향을 미친다고 보고되었다 [19]. IAA의 경우는 뿌리성장과 직접적인 관계가 있으므로 yam과 같은 뿌리를 식용으로 섭취하는 작물의 경우 많은 영향을 받을 것으로 사료된다. 본 연구에서 분리한 SYE-3는 *Arthrobacter scleromae*로,

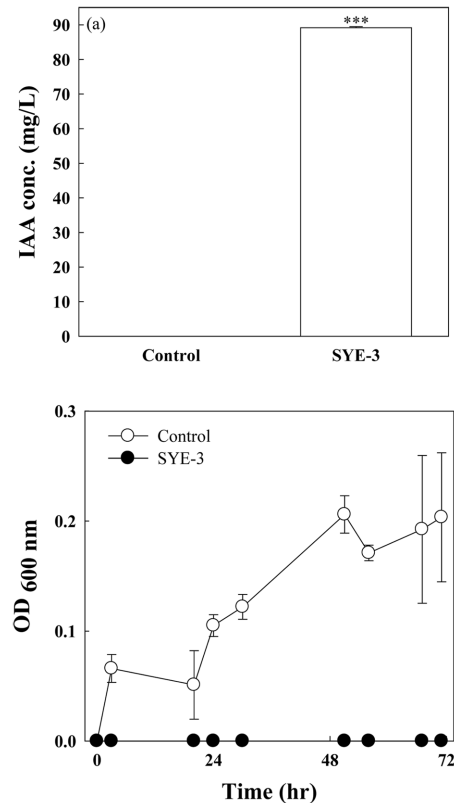


Fig. 1. Plant growth promoting activity of *Arthrobacter scleromae* SYE-3. (a) IAA productivity, (b) ACC deaminase activity. ●, control; ○, SYE-3. Star (*) means the difference from control (*0.01 < p ≤ 0.05; **0.001 < p ≤ 0.01; ***p ≤ 0.001).

지금까지 *Arthrobacter* sp.를 이용한 연구는 몇몇 연구자에 의해 IAA생산능력을 가지고 있다고 보고되었다 [20-22]. Arora와 Bae (2014)는 *Arthrobacter* sp. SPG가 36시간에 70.076 mg/L의 IAA를 생산하였다고 보고하였으며 [20], Banerjee 등 (2010)은 토마토의 근권에서 분리한 *Arthrobacter* sp. BF 16균주가 20.3 mg/L의 IAA를 생산하였다고 보고하였다 [21]. 또한, 양치식물인 *Azolla*에서 분리한 *Arthrobacter* sp.인 TRN과 M9은 각각 3.3 mg/L과 3.5 mg/L의 IAA를 생산한다고 보고되었다 [22]. 본 연구에서 분리된 *Arthrobacter scleromae* SYE-3의 IAA 생산능은 89.15 ± 0.36 mg/L로 위에서 기존 PGPR 활성이 보고된 균주들에 비해 상당히 높은 편이다.

토양환경에 스트레스요인 (오염물질, 염분, 수분부족 등등)이 존재하면 식물의 뿌리에 식물성 호르몬인 ethylene과 그 전구체인 ACC가 축적된다 [15,23]. 다량의 ACC가 축적되면 식물 성장에 스트레스로 작용하고 식물의 뿌리성장을 저해한다 [24]. 이렇게 ACC가 풍부해진 근권토양은 ACC를 질소원으로 이용하는 근권미생물의 군집화를 유도한다 [25]. 이들 근권미생물은 ACC deaminase 효소를 가지고 있어 식물로부터 배출되는 ACC를 분해한다 [24]. 본 연구에서 식물성장촉진 근권미생물을 분리하기 위해 사용한 토양은 알칼리

화가 진행되고 있는 건조한 Neigeria 서남부 지역에서 유래된 것으로 토양 주변에 토착식물이 분포하고 있었다. 실험 토양은 알칼리화와 건조화 등의 환경스트레스가 존재하는 토양으로서 스트레스요인이 적은 일반토양에 비해 ACC deaminase 효소를 가진 근권미생물이 많을 것으로 예상되었고 실제 연구결과에서 ACC deaminase 효소를 가지는 미생물이 다량 존재하였다 (data not shown). 그 중에서 *Arthrobacter scleromae* SYE-3는 분리된 여러 종류의 미생물 중에서도 ACC deaminase 효소활성이 우수하였다. *Arthrobacter* sp. 계열의 미생물들 중에서 ACC deaminase 효소 활성을 가지며 식물의 성장을 향상시킬 수 있는 능력이 있는 미생물들이 다양하게 보고되고 있다. Tiwari 등 (2011)은 염분이 존재하는 토양에서 다양한 미생물을 분리하고 동정한 후 식물성장촉진능력을 평가하였다. 그 중 *Arthrobacter* sp. AS18은 대조군과 비교했을 때 밀 잎의 성장을 167.39% 향상시켰다 [26]. *Arthrobacter protophormiae* SA3가 접종된 토양에서 성장된 완두를 특정 균주가 접종되지 않은 대조군과 비교했을 때, 식물의 길이와 뿌리 무게에는 큰 영향을 미치지 않았지만 (각각 100.58, 103.04% 향상) 식물 줄기의 건조 중량은 112.27%로서 접종된 균주의 식물성장 촉진능력을 확인하였다. 또한, 100 mM의 salt가 첨가된 환경에서는 식물의 줄기 길이, 뿌리 무게 그리고 건조중량을 모두 109.70%, 104.98% 그리고 113.77% 향상시켰고, 200 mM의 salt가 첨가된 환경에서는 126.49%, 117.42%, 그리고 133.21%로 SA3에 의해 완두의 성장률이 더욱 향상되었다 [27]. ACC는 식물이 스트레스 환경에 노출되었을 때 다량 분비되는 물질로 염이라는 스트레스성 물질이 환경에 유입되었을 때 ACC deaminase 효소를 가진 근권미생물을 효과는 더욱 높아진 것으로 사료된다.

3.2. 분리 균주 *Arthrobacter scleromae* SYE-3의 성장 성장 특성

분리된 *Arthrobacter scleromae* SYE-3의 생리 대사 활성을 알아보기 위해 염이 존재하는 환경, 다양한 pH 환경, 다양한 배양 온도를 설정하여 미생물의 성장특성을 평가하였다. SYE-3균주는 환경스트레스 요인 중 하나인 염이 존재하지 않는 환경 (대조군)과 비교했을 때 1%와 2% (v/w)의 염이 존재하는 환경에서는 성장의 저해를 받지 않았지만 3%의 염이 존재하는 조건에서는 성장에 저해를 받았다 (Fig. 2(a)).

일반적으로 미생물에게도 염은 스트레스성 물질로 호염성 미생물을 제외한 대부분의 미생물은 염에 의해 성장에 저해를 받는다. 이는 높은 농도의 염이 존재하는 조건에서는 높은 삼투압에 의해 미생물의 생물활성이 저해되고 또한, 염의 농도가 높을 때 미생물이 세포 외부와 내부의 염 농도를 일정하게 유지하기 위해 세포 내로 유입된 염을 세포 밖으로 내보내면서 에너지 (ATP)를 소비하게 되고, 염 농도가 높을수록 소비되는 에너지가 커져 미생물 활성에 저해가 있기 때문이다 [28].

SYE-3의 성장을 위한 최적의 pH 조건을 도출하기 위해 각각 다른 pH 조건 하에서의 분리균주의 성장을 평가하였다.

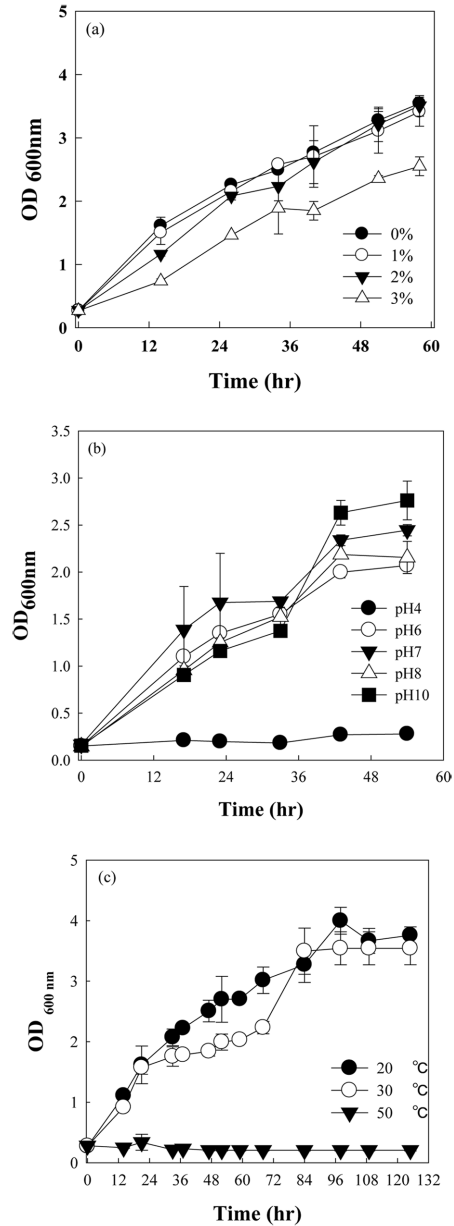


Fig. 2. Physiological characteristics of the *Arthrobacter scleromae* SYE-3. (a) Salinity tolerance, (b) pH, and (c) temperature.

그 결과, SYE-3는 pH 4에서는 성장에 저해를 받았지만 pH 5-10의 범위 안에서는 성장에 큰 영향을 받지 않았다 (Fig. 2(b)). 미생물의 성장에는 다양한 환경적 요인이 작용한다. pH는 미생물 성장에 관여하는 화학적 환경요인으로 대사와 생화학적 활성에 영향을 미친다. 중성 미생물의 성장 최적 pH는 일반적으로 pH 7.0~7.5이며 높아지거나 낮아지면 미생물의 성장에 저해를 받는다. 그러나 호알칼리성 미생물의 경우 최적의 성장 pH는 8.0~11.0으로 pH가 7.0 이하일 때는 성장에 저해를 받는다 [29]. SYE-3는 pH가 높아질수록 미생물 성장이 향상되었기 때문에 호알칼리성 미생물로 판단된다.

일반적으로 호알칼리성 미생물은 pH가 10 이상일 때 최적의 성장을 보이는데 SYE-3의 경우는 넓은 성장 범위 (pH 5~10)를 갖고 있다. 일부 연구에 의하면 호알칼리성 미생물들 중 넓은 범위의 pH 성장 범위는 갖는 미생물이 존재한다고 보고되었다 [29]. SYE-3를 분리한 근권토양은 잣물을 비료로 이용해 화전농업을 하고 있어, 토양의 알칼리화가 진행되고 있는 밭토양에서 서식하는 토착 식물의 근권토양이었다 [30]. 이 토양은 오랜 기간 알칼리화가 진행된 토양이기 때문에 토양에 우점하고 있는 미생물도 호알칼리성 미생물일 것으로 사료된다.

균주 성장의 최적 온도조건을 도출하기 위해 각각 다른 온도 조건에서 배양하였다. 균주의 최적 온도는 20°C였지만 30°C와 크게 다르진 않았으며, 50°C에서는 성장하지 못했다. 온도는 미생물 성장과 생존에 가장 큰 영향을 미치는 중요한 환경요인 중 하나로 대개 미생물의 서식지의 온도 범위와 평균온도에 따라 최적 성장 온도가 결정되는 경우가 많다. 미생물의 기본 온도는 매우 다르지만 중온성 미생물의 전형적인 성장 가능 온도는 20~35°C로 알려져 있다 [29]. 본 연구에서 분리한 SYE-3는 20~30°C에서 온도의 영향을 받지 않고 잘 성장하였으므로 중온성 미생물이다.

분리된 *Arthrobacter scleromae* SYE-3는 3% 이상의 염이 존재할 때에는 성장에 저해를 받으며, pH 5~10의 넓은 범위에서 성장하며 pH가 상승할수록 성장이 향상되는 호알칼리성 미생물의 성장이 강하게 나타났다. 또한 20~30°C에서 온도의 영향을 받지 않고 잘 성장하였으므로, SYE-3는 호알칼리성 중온성 미생물로 사료된다.

3.3. 식물성장촉진 근권미생물 *Arthrobacter scleromae* SYE-3의 yam 성장에 미치는 영향

식물성장촉진능이 우수한 *Arthrobacter scleromae* SYE-3를 대상으로 덩굴식물이며 뿌리가 식용으로 이용되는 yam (*Dioscorea japonica* Thunb.)의 성장을 촉진할 수 있는지를 평가하였다. 112일 동안 식물을 재배하면서 줄기의 길이를 측정할 결과, 재배 14일까지는 균주의 존재 여부와 상관없이 식물의 성장 속도가 비슷하다가 14일 이후 SYE-3균주가 접종되지 않은 대조군은 천천히 성장하는 반면에 SYE-3균주가 첨가된 실험군은 빠르게 성장하였다. 재배 112일째의 식물의 길이는 대조군이 33.97±2.23 cm인 반면에 실험군은 64.55±7.74 cm로 190.0% 성장이 향상되었다. 또한 재배가 끝난 후 yam의 뿌리를 채취하여 biomass를 측정할 결과, 대조군이 11.14±5.08 g인 반면에 실험군은 31.46±6.42 g으로 282.41%의 무게가 크게 향상되었다. 마과 식물인 yam의 뿌리 성장을 효과적으로 촉진한 본 실험결과는 현장 적용 시 매우 유리할 것으로 사료된다.

식물성장촉진 능력을 가지고 있는 미생물은 매우 다양하다. 특히, *Bacillus* sp.와 *Pseudomonas* sp.에 관한 식물성장 촉진 미생물은 많이 보고되어있다 (Table 1). *Bacillus* sp. OSU-142는 apple의 줄기 길이, 과실의 생산량을 각각 59.2%와 116.4% 증대시켰으며, *Bacillus* sp. M-3은 각각 7.0%와 73.7%,

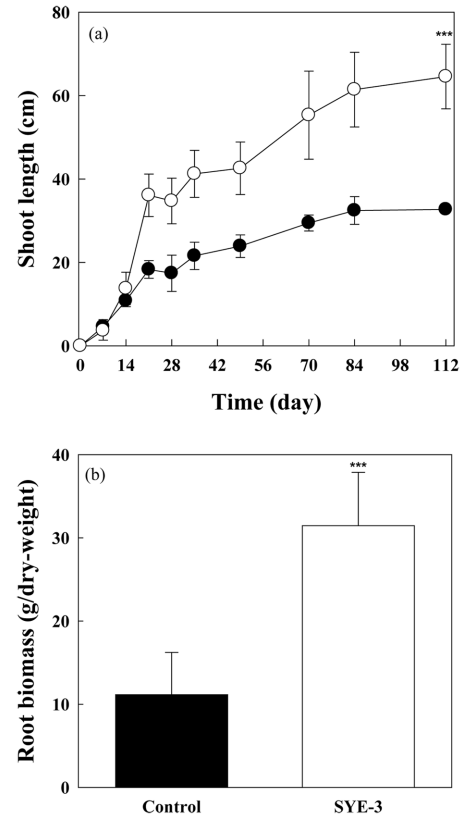


Fig. 3. Effects of the inoculations of *Arthrobacter scleromae* SYE-3 on the growth of yam (*Dioscorea japonica* Thunb.) in mesocosm. (a) shoot length, (b) root biomass. ●, Control; ○, SYE-3. Star (*) means the statistically significant differences from control (*0.01 < p ≤ 0.05; **0.001 < p ≤ 0.01; ***p ≤ 0.001).

그리고 *Pseudomonas* sp. BA-8는 각각 14.3%과 137.5% 식물의 성장을 향상시켰다[31]. *Pseudomonas* sp. R-168, R-93, DSM 50090, 그리고 DSM 1691는 옥수수의 성장을 향상시켰고 [32], *Bacillus* sp. GB03과 937a는 후추의 뿌리중량과 줄기중량을 각각 26%와 47% 향상시켰고 토마토는 각각 59%와 67% 향상시켰다 [33]. *Pseudomonas* sp. WSC3653은 토마토의 뿌리성장을 향상시켰고 [34], *Pseudomonas* sp. Biotype A7은 배의 뿌리길이를 43% 향상시켰으며 [35] *Pseudomonas* sp. AM3과 RP12는 유채의 성장을 향상시켰다 [18]. 또한, *Bacillus* sp. DSM-8563는 상추의 성장을 77% 향상시키는 효과가 있었다 [36]. 그러나 식물성장촉진 근권미생물 가운데 보고된 *Arthrobacter* sp.는 그 적용 사례가 많지 않았다. 그 중 *Arthrobacter* sp.가 식물의 성장을 향상시키고 있음을 일부 연구자에 의해 발표되었다. *Arthrobacter* sp. 7037은 ACC deaminase 효소와 질소고정능력을 가진 근권미생물로 Chinese cabbage의 biomass를 대조군과 비교했을 때 139% 향상시켰다 [37]. IAA, Phosphate solubilization, Gibberellin production 등을 가지고 있는 *Arthrobacter* sp. SU 18은 염이 존재하는 환경에서 wheat의 성장을 크게 향상시켰다 [38]. IAA 생산능, sidero-

Table 1. Effects of rhizobacteria on plants growth in soil

Plant	Rhizobacterium	Effect on plant growth	Reference
	<i>Bacillus</i> sp. OSU-142	Promotion of plant growth (shoot length, 59.2%; fruit yield, 116.4%)	
Apple (<i>Malus domestica</i>)	<i>Bacillus</i> sp. M-3	Promotion of plant growth (shoot length, 7.0%; fruit yield, 73.7%)	Aslantas et al., 2007
	<i>Pseudomonas</i> sp. BA-8	Promotion of plant growth (shoot length, 14.3%; fruit yield, 137.5%)	
Maize (<i>Zea meys</i>)	<i>Pseudomona</i> . sp. R-168, R-93, DSM 50090, DSM291	Promotion of plant growth	Nezarat and Gholami, 2009
Wheat (<i>Triticum aestivum</i>)	<i>Bacillus</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp., and <i>Pseudomonas</i> sp.	Promotion of plant tolerance in pollutant	Sudhir and Singh, 2009
Pepper (<i>Piper nigrum</i>)	<i>Bacillus subtilis</i> GB03, <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> 937a	Promotion of plant growth (root mass, 26%; shoot mass, 47%)	Kloepper et al., 2007
Tomato (<i>Lycopersicon esculentum</i>)	<i>Bacillus subtilis</i> GB03 + <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> in 937a	Promotion of plant growth (root mass, 59%; shoot mass, 63%)	
	<i>Pseudomonas fluorescens</i> WCS3653	Promotion of plant growth	Lugtenberg and Kamilova, 2009
Pea (<i>Pisum sativu</i>)	<i>Pseudomonas putida</i> biotype A7	Increase of root length (43%)	Shaharoon et al., 2007
Rape (<i>Brassica napus</i>)	<i>Pseudomonas fluorescens</i> AM3	Increase of root length (37%)	Ma et al., 2009
Lettuce (<i>Lactuca sativa</i>)	<i>Pseudomonas</i> sp. SR12	Promotion of plant growth	
	<i>Bacillus subtilis</i> DSM-8563	Plant growth (77%)	Kohler et al., 2007

phore 생산능 그리고 antifungal activity를 가지는 *Arthrobacter globiformis* Y2S3는 wheat (*Triticum aestivum*)의 근권에서 서식하면서 wheat의 생산량을 증대시키는 효과를 나타냈다 [39]. 본 연구에서 분리된 SYE-3는 *Arthrobacter* sp.의 한 종류로 지금까지 보고된 식물성장촉진 미생물들과는 다른 종류의 미생물이며 특히, 아직까지 yam의 성장을 향상시킬 수 있는 *Arthrobacter* sp.에 관한 연구보고는 없다. 이에 양의 생물비료로 SYE-3의 사용이 가능할 것으로 사료된다.

4. CONCLUSION

본 연구에서는 *Arthrobacter scleromae* SYE-3를 아열대성 기후에서 성장하는 토착식물의 근권으로부터 분리하였고 SYE-3의 식물성장촉진능력을 평가하고 최적의 배양조건을 확립하였다. 분리 균주 SYE-3는 *Arthrobacter scleromae*로 동정되었고, IAA 생산능 (89.15±0.36 mg/L)과 ACC deaminase 활성 (0.20±0.06 at 72 hours)을 가지고 있었다. 균주 SYE-3는 pH 10, 20°C 그리고 LB medium에서 가장 잘 자라며, 3% (w/v)의 염분이 존재하는 환경에서도 성장이 가능하다. 균주 SYE-3를 접종한 후 yam (*Dioscorea japonica* Thunb.)의 성장에 미치는 영향을 112일 동안 평가한 결과, 줄기 길이와 뿌리성장이 대조군과 비교하여 각각 190.0%와 282.41% 향상되었다. *Arthrobacter scleromae* SYE-3는 아열대성 기후에서 성장하는 작물인 yam의 성장을 크게 향상시켜 생물비료로서의 잠재적 능력을 확인하였다.

Acknowledgements

This subject is supported by Korea Ministry of Environment (MOE) as Advanced Technology Program for Environmental Industry Program.

REFERENCES

- Khan, A. G (2005) Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 18: 355-364.
- Koo, S. Y. and K. S. Cho (2006) Interaction between plants and rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal-contaminated soil. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 2: 83-93.
- Nehl, D. B., S. J. Allen, and J. F. Brown (1996) Deleterious rhizosphere bacteria an intergrating perspective (review). *Appl. Soil Ecol.* 5: 1-20.
- Glick, B. R. (1995) The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can J Microbiol.* 41: 109-117.
- Johnson, D. L., D. R. Anderson, and S. P. McGrath (2005) Soil microbial response during the phytoremediation of a PAH contaminated soil. *Soil Biol. Biochem.* 37: 2334-2336.
- Golubev, S. N., A. V. Schelud'ko, A. Y. Muratova, O. E. Makarov, and O. V. Turkovskaya (2009) Assessing the potential of rhizobacteria to survive under phenanthrene pollution. *Water Air Soil Poll.* 198: 5-16.
- So, J. H., D. J. Kim, J. H. Shin, C. B. Yu, and I. K. Rhee (2009)

- Isolation and characterization of *Bacillus cereus* A-139 producing auxin from east coast sand dunes. *Kor. J. Environ. Agr.* 28: 447-452.
8. Schnoor, J. L. (1997) Phytoremediation: Technology Evaluation Report. TE-98-01. Groundwater remediation technologies analysis center, Iowa City, Iowa, USA.
 9. Ahn, J. H., K. H. Son, H. Y. Sohn, and S. T. Kwon (2005) In vitro culture of adventitious roots from *Dioscorea nipponica* Makino for the production of steroidal saponins. *J. Plant Biotechnol.* 32: 217-223.
 10. Ahn, J. W. and J. Y. Yoon (2008) Quality characteristics of noodles added with *Dioscorea japonica* powder. *Korean J. Food Sci. Technol.* 40: 528-533.
 11. Ryu, H. Y., Y. S. Kim, S. J. Park, B. H. Lee, S. T. Kwon, and H. Y. Sohn (2006) Isolation and characterization of yam putrefactive psychrotrophic bacteria from rotted yam. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 34: 109-114.
 12. Kwon, C. S., H. Y. Sohn, S. H. Kim, J. H. Kim, K. H. Son, J. S. Lee, J. K. Lim, and J. S. Kim (2003) Anti-obesity effect of *Dioscorea nipponica* Makino with lipase-inhibitory activity in rodents. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67: 1451-1456.
 13. Ha, Y. D., S. P. Lee, and Y. G. Kwak (1998) Removal of heavy metal and ACE inhibition of Yam mucilage. *J. Korean Soc. Food Sci. Nutr.* 27: 751-755.
 14. Lee, J. G. (2014) Antioxidant activities and monacolin K production on solid-state fermentation of diverse Yam by *Aspergillus* species strain. *Kor. J. Microbiol.* 50: 53-59.
 15. Hong, S. H. and E. Y. Lee (2014) Vegetation restoration and prevention of coastal sand dunes erosion using ion exchange resins and the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus* sp. SH1RP8 isolated from indigenous plants. *Int. Biodeter. Biodegr.* 95: 262-269.
 16. Dell'Amico, E., L. Cavalca, and V. Andreoni (2005) Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* 52: 153-162.
 17. Hong, S. H., H. W. Ryu, J. Kim, and K. S. Cho (2011) Rhizoremediation of diesel-contaminated soil using the plant growth-promoting rhizobacterium *Gordonia* sp. S2RP-17. *Biodegradation* 22: 593-601.
 18. Ma, Y., M. Rajkumar, and H. Freitas (2009) Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica* spp. *Chemosphere* 75: 719-725.
 19. Xie, H., J. J. Pasternak, and B. R. Glick (1996) Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Curr. Microbiol.* 32: 67-71.
 20. Arora, P. K. and H. Bae (2014) Identification of new metabolites of bacterial transformation of indole by gas chromatography-mass spectrometry and high performance liquid chromatography. *Int. J. Anal. Chem.* 2014: 1-5.
 21. Banerjee, S., R. Palit, C. Sengupta, and D. Standing (2010) Stress induced phosphate solubilization by *Arthrobacter* sp. and *Bacillus* sp. isolated from tomato rhizosphere. *Aust. J. Crop Sci.* 4: 378-383.
 22. Forni, C., J. Riov, M. G. Caiolai, and E. Tel-Or (1992) Indole-3-acetic acid (IAA) production by *Arthrobacter* species isolated from *Azolla*. *J. Gen. Microbiol.* 138: 377-381.
 23. Pennazio, S. and P. Roggero (1992) Effect of Cd and nickel on ethylene biosynthesis in soybean. *Biol. Planta.* 34: 345-349.
 24. Glick, B. R. (2003) Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnol. Adv.* 21: 383-393.
 25. Belimov, A. A., V. I. Safronova, T. A. Sergeyeva, T. N. Egorova, V. A. Matveyeva, V. E. Tsyganov, A. Y. Borisov, I. A. Tikhonovich, C. Kluge, A. Preisfeld, K.-J. Dietz, and V. V. Stepanok (2001) Characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from polluted soils and containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Can. J. Microbiol.* 47: 642-652.
 26. Tiwari, S., P. Singh, R. Tiwari, K. K. Meena, M. Yandigeri, D. P. Singh, and D. K. Arora (2011) Salt-tolerant rhizobacteria-mediated induced tolerance in wheat (*Triticum aestivum*) and chemical diversity in rhizosphere enhance plant growth. *Biol. Fertil. Soils* 47: 907-916.
 27. Barnawal, D., N. Bharti, D. Maji, C. S. Chanotiya, and A. Kalra (2014) ACC deaminase-containing *Arthrobacter protophormiae* induces NaCl stress tolerance through reduced ACC oxidase activity and ethylene production resulting in improved nodulation and mycorrhization in *Pisum sativum*. *J. Plant Physiol.* 171: 884-894.
 28. Lee, M. J., T. H. Kim, B. Min, and S. J. Hwang (2012) Sodium (Na⁺) concentration effects on metabolic pathway and estimation of ATP use in dark fermentation hydrogen production through stoichiometric analysis. *J. Environ. Manage.* 108: 22-26.
 29. Madigan, M. T., J. M. Martinko, P. V. Dunlap, and D. P. Clark (2009) *Brock biology of microorganisms*. 12th ed., pp. 41-45. Pearson Education, Benjamin Cummings, NY, USA.
 30. Lee, E. Y. and S. H. Hong (2013) Assessment of the changes in the microbial community in alkaline soils using biologic ecoplate and DGGE. *KSBB J.* 28: 275-281.
 31. Aslantaş, R., R. Çakmakci, and F. Sahin (2007). Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions. *Sci. Hortic.* 111: 371-377.
 32. Nezarat, S. and A. Gholami (2009) Screening plant growth promoting rhizobacteria for improving seed germination, seedling growth and yield of maize. *Pakistan. J. Biol. Sci.* 12: 26-32.
 33. Kloepper, J. W., A. Gutiérrez-Estrada, and J. A. McInroy (2007) Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 53: 159-167.
 34. Lugtenberg, B. and F. Kamilova (2009) Plant-growth-promoting rhizobacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* 63: 541-556.
 35. Shaharoon, B., M. Arshad, and A. Khalid (2007) Differential response of etiolated pea seedlings to inoculation with rhizobacteria capable of utilizing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate or L-methionine. *J. Microbiol.* 45: 15-20.
 36. Kohler, J., F. Caravaca, L. Carrasco, and A. Roldán (2007) Interactions between a plant growth-promoting rhizobacterium, an AM fungus and a phosphate-solubilising fungus in the rhizosphere of

- Lactuca sativa*. *Appl. Soil Ecol.* 35: 480-487.
37. Chen, Q., H. Y. Hu, M. Gao, J. Xu, Y. Q. Zhou, and J. G. Sun (2011) Screening and identification of a nitrogen fixing bacteria with 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase activity. *Plant Nutr: Fert. Sci.* 17: 1515-1521.
 38. Upadhyay, S. K., D. P. Singh, and R. Saikia (2009) Genetic diversity of plant growth promoting rhizobacteria isolated from rhizospheric soil of wheat under saline condition. *Curr: Microbiol.* 59: 489-496.
 39. Upadhyay, S. K. and D. P. Singh (2014) Effect of salt-tolerant plant growth-promoting rhizobacteria on wheat plants and soil health in a saline environment. *Plant Biology* 17: 288-293.
 40. Sachdev, D., V. Agarwal, P. Verma, Y. Shouche, P. Dhakephalkar, and B. Chopade (2008) Assessment of microbial biota associated with rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum*) during flowering stage and their plant growth promoting traits. *The Internet Journal of Microbiology* 7: 10.5580/21a7.